

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Laboratoire de Chimie organique
et pharmaceutique

FACULTÉ DES SCIENCES
Professeur E. Cherbuliez

Sur quelques dérivés polypeptidiques de la sulfanilamide

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur ès sciences chimiques

par

Marcel-Adrien NICOLET

de

La Sagne (Suisse)

Thèse N° 1103

Editions Médecine et Hygiène
GENÈVE
1956

UNIVERSITÉ DE GENÈVE
Laboratoire de Chimie organique
et pharmaceutique

FACULTÉ DES SCIENCES
Professeur E. Cherbuliez

Sur quelques dérivés polypeptidiques de la sulfanilamide

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur ès sciences chimiques

par

Marcel-Adrien NICOLET

de

La Sagne (Suisse)

Thèse N° 1103



Editions Médecine et Hygiène
GENÈVE
1956

La Faculté des Sciences, sur le préavis de Monsieur le professeur E. Cherbuliez, autorise l'impression de la thèse présentée par M. Marcel-A. Nicolet-Monnier, pharmacien, intitulée: « Sur quelques dérivés polypeptidiques de la sulfanilamide » sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 24 février 1947.

Le Doyen :

Paul-E. WENGER

THÈSE N° 1103

Nous tenons à remercier ici notre Maître, Monsieur le Professeur E. Cberbuliez, du sujet de thèse qu'il a bien voulu nous proposer et nous lui exprimons notre gratitude pour les conseils et encouragements qu'il nous a prodigués tout au long de ce travail.

À LA MÉMOIRE DE MON PÈRE.

À MA FEMME.

INTRODUCTION

Lorsqu'on substitue dans la sulfanilamide les hydrogènes de la fonction « amido » par des restes acycliques, on obtient des corps dont l'activité bactériostatique est voisine de celle de la sulfanilamide. Ceci est vrai en particulier pour les substituants alcoylés, à 1 ou 2 atomes de carbone.

En vue d'accroître cette activité, H. BAUER¹ a introduit des fonctions carboxy- et hydroxy-alcoyles, et il a préparé entre autres la sulfanilylglycine, utilisée en Suède sous le nom de « Streptasol », mais malheureusement peu soluble.

On pouvait se demander si les polypeptides, condensés avec le radical « sulfanilyle », ne joueraient pas un rôle intéressant dans l'accroissement de la solubilité, par leur tendance relativement grande à l'ionisation. On apporterait ainsi dans l'organisme et à forte concentration des sulfamidés capables de se combiner à la fois aux acides et aux bases, et dont l'activité pourrait se développer dans les tissus mêmes par hydrolyse enzymatique des liaisons peptidiques.

C'est à l'étude de ce problème que nous avons consacré ce travail. Dans ce but, nous avons cherché à synthétiser quelques sulfa-peptides en faisant tout d'abord appel aux méthodes générales² utilisant le blocage de la fonction « N₄-amino », puis en raison des difficultés que nous avons rencontrées, nous avons eu recours à la réduction catalytique des dérivés nitrés.

A ce propos, il est intéressant de relever que les dérivés polypeptidiques de l'acide p-aminobenzoïque³ peuvent être préparés sans acétylation préalable du groupe « amino ». En effet, le chlorure de l'acide p-aminobenzoïque⁴ s'obtient par ébullition avec le chlorure de thionyle, à côté d'un peu d'acide p-aminobenzoyl-p-aminobenzoïque, formé comme produit secondaire.

Notre travail se divise en trois parties.

La première est un exposé des méthodes suivies et de quelques hypothèses que nous avons été amenés à formuler pour tenter d'expliquer le mécanisme de certaines réactions. Elle s'achève par nos conclusions.

La deuxième partie a trait au détail même de nos expériences.

La troisième enfin donne la description des appareils que nous avons construits, et leur théorie.

PREMIERE PARTIE

La synthèse des sulfa-peptides par blocage de la fonction N_4 -amino

Nous avons suivi la méthode préconisée par Hugo BAUER¹ pour les corps à caractère faiblement basique. Nous avons préparé le chlorure de N-acétylsulfanilyle² que nous avons fait réagir sans purification préalable, en milieu alcalin 2 N, soit avec la glycine, soit avec la glycyglycine, la diglycyglycine ou la tétraglycyglycine^{17, 18, 19, 20}. Nous avons obtenu sans difficulté les produits de condensation correspondants. Nous constatons toutefois que le caractère cristallin de ces différents corps s'atténue avec l'allongement de la chaîne. Simultanément, les points de fusion vont en s'abaissant régulièrement. La N-acétylsulfanilyl-tétraglycyglycine seule n'a pas de point de fusion défini. Ces corps se présentent comme des acides faibles, solubles dans la soude caustique et titrables en milieu alcalin, en présence de phénolphtaléine.

La désacétylation de ces corps, exception faite de la N-acétylsulfanilyl-glycine, n'a pas conduit aux résultats que nous escomptions. Si le lien «sulfonamide»² résiste à l'action de l'acide chlorhydrique 5 N, à chaud et durant 30 minutes, les liens peptidiques eux, sont rapidement scindés et ce qu'on obtient n'est probablement qu'un mélange d'homologues inférieurs, allant jusqu'à la sulfanilyl-glycine.

Nous avons dû renoncer à l'emploi d'acide sulfurique qui scinde facilement tous les groupements «sulfonamido» à l'ébullition². Nous n'avons pas eu non plus recours à la soude caustique, dont l'action sur le groupe «acétyle», doit se prolonger pendant 2 à 3 heures.

Pour tenter d'éluder cette difficulté, nous avons utilisé le reste

«formyle»^{5,6} dont la vitesse de saponification est considérablement plus grande que celle de la fonction «acétyle». Nous avons préparé le chlorure de N-formylsulfanilyle⁷, que nous avons fait réagir sur la glycine, en présence de soude caustique 2 N. Nous n'avons pas pu isoler la N-formylsulfanilyl-glycine et nous devons admettre que l'action saponifiante du milieu alcalin sur le reste «formyle» se trouve favorisée par le fait que le mélange s'échauffe. A l'appui de ceci, rappelons que la formanilide est décomposée 37 fois plus rapidement que l'acétanilide par la soude caustique N/5 à l'ébullition.

Nous avons encore envisagé le blocage de la fonction «N-amino» selon la méthode de Bergmann et avons préparé dans ce but le sel sodique, puis le chlorure de l'acide N-carbobenzoxysulfanilique⁸, ainsi que la N-carbobenzoxy-sulfanilyl-glycine. Ce dernier corps a été obtenu avec un mauvais rendement en raison des nombreuses purifications auxquelles il a fallu le soumettre. Nous n'avons pu le scinder en N-sulfanyl-glycine par hydrogénation en présence de noir de platine.

La synthèse des sulfa-peptides à partir des dérivés nitrés.

L'instabilité à la chaleur des chaînes polypeptidiques en solutions acides et alcalines, nous a incité à recourir à la réduction des dérivés nitrés correspondants.

Les agents de réduction des dérivés nitrés sont nombreux, mais tous ne conduisent pas également au stade final «amino». Ceux qui présentent le plus d'intérêt au point de vue rapidité et rendement, sont justement ceux dont l'action hydrolysante est la plus marquée sur les liaisons amidées des peptides, en particulier les réducteurs acides, comme l'étain ou le chlorure stanneux en milieu chlorhydrique. Avec les dérivés mononitrés, les agents neutres donnent surtout lieu à la formation de dérivés d'un degré de réduction intermédiaire.

Aussi, l'hydrogénation catalytique est-elle certainement le procédé qui répond le mieux aux conditions de stabilité requises et c'est ce procédé que nous avons cherché à appliquer.

Nous aurions voulu obtenir directement les sulfa-peptides à partir des dérivés nitrés correspondants, mais comme nous le verrons plus loin, la réduction directe donne naissance à des produits intermédiaires instables qui ne permettent plus d'isoler le produit final. Pour résoudre la question et à la suite de certaines constatations, nous avons été amené à estérifier la fonction carboxyle libre de la chaîne peptidique. De cette façon, nous avons pu préparer les esters de quelques sulfa-peptides.

1. Préparations des dérivés nitrés.

Le point de départ de ces synthèses est le chlorure de p-nitrobenzènesulfonyle brut², que nous avons obtenu à partir du p-chloronitrobenzène en passant par le disulfure de p-nitrophényle, l'acide p-nitrobenzène sulfonique et le p-nitrobenzène sulfonate de potassium. Nous donnons plus loin le détail de ces opérations, car nous avons pu améliorer sensiblement les procédés mentionnés par plusieurs auteurs. En particulier, dans la chloruration, nous avons accru le rendement par un chauffage préalable prolongé du p-nitrobenzène sulfonate de potassium, jusqu'à élimination complète de l'eau de cristallisation.

En ce qui concerne les condensations, nous avons fait réagir le chlorure de p-nitrobenzènesulfonyle en milieu alcalin 2N sur les mêmes peptides que précédemment. Il y a lieu de relever à ce sujet qu'ici les réactions de condensation sont fortement exothermiques et beaucoup plus rapides (quelques minutes) que les réactions avec le chlorure de p-acétylsulfanilyle. Il est même indispensable pour les di, tri, et pentapeptides de refroidir et d'ajouter progressivement la soude caustique 2 N, afin d'éviter l'hydrolyse des liaisons peptidiques. Malgré ces précautions, il ne nous a pas été possible de préparer par cette méthode, la p-nitrobenzènesulfonyl-tétraglycylglycine.

Les p-nitrobenzènesulfonyl-peptides sont colorés en jaune orange à l'état d'anions et en jaune pâle à l'état d'acides. Cette propriété est utile pour suivre la marche de la réaction et éviter un excès d'alcali.

2. La réduction catalytique à pression ordinaire.

Nous avons procédé selon la méthode de «Synthèses organiques»^{9, 10} en travaillant sur des quantités de 1 à 3 grammes, correspondant à des volumes d'hydrogène de 300-900 cm³. Pour un volume moyen de 15 cm³ de solvant, nous avons fait varier les proportions d'oxyde platinique¹¹ de 3 à 50 mgr., ce qui a donné lieu à un accroissement simultané de la vitesse d'hydrogénation.

Les périodes d'induction ont été très différentes d'une substance à l'autre et souvent aussi pour une même substance (5 à 60 minutes).

Quant à la vitesse de réduction, rapide et régulière dès le début, nous l'avons vue pour la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine par exemple, se ralentir brusquement après une absorption de 2 ½ molécules; le produit de réduction obtenu s'est présenté comme un corps très oxydable. En tenant compte des 2 ½ volumes d'hydrogène absorbé, on est tenté d'admettre que la majeure partie du corps réduit est constituée par le dérivé hydrazoïque¹². Comme pratiquement on n'arrive pas à achever la réduction, nous avons abandonné ce procédé.

3. L'hydrogénation sous pression.

Nous nous sommes demandé si la cause de ces réductions incomplètes ne devait pas être recherchée dans une différence trop faible entre les potentiels des deux systèmes oxydo-réducteurs [...NO₂]/[...]NH₂] et [H]/p_{H₂}^{1/2}.

Le potentiel du système [...NO₂]/[...]NH₂], très élevé au début, baisse continuellement au cours de la réaction par disparition progressive de (...NO₂); au contraire, le potentiel du système [H]/p_{H₂}^{1/2} ne varie pas: la pression d'hydrogène est maintenue constante par le dispositif de l'appareil et de ce fait la concentration en hydrogène adsorbé est aussi constante. En augmentant la pression de l'hydrogène, nous allons abaisser le rapport [H]/p_{H₂}^{1/2} et accroître la différence de potentiel des deux systèmes.

Nous n'avons malheureusement pas eu à disposition un appareil à réduction sous haute pression et nous avons effectué nos essais dans un montage en verre Pyrex (décrit plus loin) permettant d'atteindre une pression utilisable de 4 atm. La vitesse de réduction s'est trouvée considérablement accélérée, mais les résultats n'ont pas été améliorés.

Que faut-il en conclure? C'est que l'écart des potentiels des deux systèmes décroît rapidement et que pour obtenir une réduction en amine, une pression de 4 atm. n'est pas suffisante. En effet, 4 atm. ne diminuent que de moitié la valeur du rapport intervenant dans le logarithme du terme correctif de l'expression du potentiel, puisque cette pression est élevée à la puissance 1/2.

4. L'hydrogénation à pression ordinaire et en présence d'ions H.

Nous avons pensé qu'il serait plus facile d'accroître le rapport [...NO₂]/[...]NH₂] en éliminant (...NH₂) au fur et à mesure de sa formation.

En considérant l'équation (...NO₂) + 6H = (...)NH₂) + 2OH₂ et en tenant compte de ce que la concentration d'hydrogène est constante, nous pouvons écrire

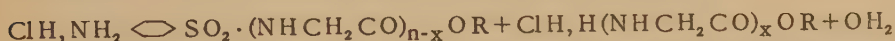
$$\frac{[...NO_2]}{[...NH_2][OH_2]^2} = \frac{K'}{[H]^6} = K$$

Un déplacement dans le sens de gauche à droite, correspondant à une hydrogénation, sera favorablement influencé par l'élimination de

(...NH₂) et de (OH₂). La fixation de l'eau est réalisée déjà par les propriétés déshydratantes du solvant (alcool, acétone). La manière la plus simple d'éliminer (...NH₂) est de le transformer en ions (...NH₃⁺) par une adjonction d'ions H⁺.

Les essais ont porté tout d'abord sur le p-nitrobenzènesulfonate de potassium en solution alcoolique, avec des adjonctions croissantes d'acide chlorhydrique concentré. La vitesse optima a été atteinte pour une proportion d'acide chlorhydrique concentré égale à 10 %. L'absorption d'H₂ s'est toujours produite sans palier jusqu'à réduction intégrale du dérivé nitré en amine.

Nous avons alors procédé à la réduction de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dans les mêmes conditions, en 35 minutes avec une période d'induction de 6 minutes. Le produit de réduction était un mélange de chlorhydrate de sulfanilyl-glycine et de son ester éthylique. La même méthode appliquée à la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine et -diglycylglycine a donné naissance à des masses d'aspect vitreux, incristallisables, quoique complètement réduites; par neutralisation, nous avons obtenu un produit gommeux, jaunâtre et oxydable. Il semble qu'une dégradation partielle se soit produite, par scission et estérification aux liaisons amides.

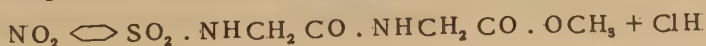


conduisant à un mélange des esters de différents sulfa-peptides et d'acides aminés. Il ne nous a pas été possible de les séparer et de les isoler à l'état pur.

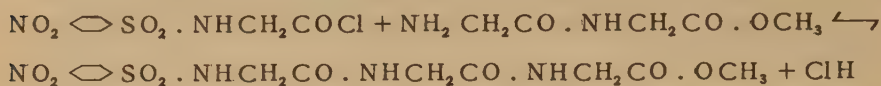
Dans ces conditions, il y a avantage à estérifier les p-nitrobenzènesulfonyl-peptides avant l'hydrogénation.

5. L'estérification des p-nitrobenzènesulfonyl-peptides.

On commence par préparer le chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycylglycine¹⁴, par action de gaz chlorhydrique sec sur un mélange de glycylglycine et d'alcool méthylique absolu bouillant. Puis on condense le chlorhydrate de l'ester soit avec le chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-, ce qui donne l'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine



soit avec le chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle, ce qui conduit à l'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-diglycylglycine.



Ces condensations se font très rapidement en milieu hydro-acétonique en présence de bicarbonate de sodium. La solubilité de ces esters dans les solvants organiques décroît très rapidement avec l'allongement de la chaîne. L'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-diglycylglycine est pratiquement insoluble dans l'alcool éthylique bouillant et à peine soluble dans l'acétone bouillant. C'est peut-être la raison pour laquelle nous n'avons pas pu préparer l'ester de la p-nitrobenzènesulfonyl-tétraglycylglycine à partir de l'ester de la triglycylglycine.

Nous avons essayé de remédier à cette insolubilité en formant soit d'autres esters, comme les esters éthyliques, benzyliques, soit des esters à fonction hydroxyle libre, comme le mono-ester du glycol, soit encore des amines comme la N-(p-nitrobenzènesulfonyl-glycyl)-colamine. Ces tentatives n'ont apporté aucune amélioration.

6. Remarque au sujet de l'ester méthylique de la p-nitrobenzène-sulfonyl-glycine.

Cet ester peut se préparer, indépendamment des méthodes que nous signalons plus loin, par dissolution à la température ordinaire de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dans de l'alcool méthylique additionné de 10 % d'acide chlorhydrique concentré. Cette dissolution se fait rapidement et peu après nous assistons à la formation de fines aiguilles ; c'est l'ester méthylique qui cristallise. Nous avons comparé les courbes de solubilité de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine et de son ester au voisinage de 15°. Alors que la solubilité du premier corps est de 117,0 pour mille à 13°, de 130,7 pour mille à 15° et de 178,8 pour mille à 20°, celle de l'ester n'est que de 5,6 pour mille à 15° et ne s'accroît que lentement. Ceci explique l'apparition presque immédiate de l'ester méthylique : en raison de la faible solubilité de ce dernier, la saturation en ester est rapidement atteinte et dès lors la cristallisation se poursuit tant qu'il y a de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dissoute, la concentration de cette dernière étant très petite en regard de celle du méthanol.

$$[\text{p-nitro} \dots] [\text{méthanol}] = K \cdot [\text{ester}] = K'$$

Mentionnons que cet ester se saponifie tout aussi facilement en présence de soude caustique 2 N à froid. Nous n'avons rien constaté de semblable avec l'alcool éthylique, ni avec les p-nitrobenzènesulfonyl-peptides.

7. *L'hydrogénation à chaud et sous pression.*

Nous avons vu que les esters étaient très peu solubles à la température ordinaire. Il est donc nécessaire d'effectuer l'hydrogénation à chaud. Nous nous sommes servi pour cela de l'appareil à hydrogénation sous pression que nous avons construit et nous indiquons à la troisième partie de ce travail le détail des manipulations.

Nous avons effectué l'hydrogénation dans l'alcool absolu sous une pression de 2 atm. et à une température de 50° environ. La période d'induction était en moyenne de 3 à 5 minutes et la durée de réduction, de 20 à 30 minutes. Après élimination du catalyseur par filtration et après évaporation partielle de l'alcool, nous avons précipité, par l'éther anhydre saturé de gaz chlorhydrique sec, le produit de réduction à l'état de chlorhydrate.

Nous avons pu isoler ainsi les chlorhydrates des esters méthyliques de la sulfanilyl-glycine et de la sulfanilyl-glycylglycine; ce sont des corps hygroscopiques très solubles dans l'eau; abandonnées à l'air, ces substances s'hydratent et s'oxydent très rapidement, mais sont parfaitement stables à l'état sec.

Du fait de son insolubilité presque totale dans l'alcool éthylique bouillant, l'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-diglycylglycine a été hydrogéné dans l'acétone à 50°, où l'hydrogénation a été complète. Nous n'avons pas encore pu isoler à l'état cristallin le chlorhydrate de l'ester méthylique de la sulfanilyl-diglycylglycine, probablement en raison de sa très grande hygroscopicité.

8. *Remarque au sujet de quelques essais faits pour obtenir la N-(p-nitrobenzènesulfonyl-glycyl)-colamine et l'ester de la colamine et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine.*

Si l'on dissout en quantités équimoléculaires à une température de -4° du chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle, dans un mélange de colamine redistillée et de soude caustique N, on peut s'attendre à obtenir de la N-(p-nitrobenzènesulfonyl-glycyl)-colamine.

Il devrait en être de même si l'on dissout par un léger chauffage l'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dans un excès de colamine redistillée.

Par contre, en chauffant de la colamine redistillée et du chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle en suspension dans du benzène sec, c'est l'ester de la colamine et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine qu'on devrait obtenir si l'on s'en réfère aux travaux de B. SAMDAHL et Chr. Fr. WEIDER⁴³ sur le mono-chlorhydrate de l'ester de la colamine et de l'acide acridine-9-carboxylique.

Or, par ces trois procédés, nous arrivons avec des rendements respectifs de 64 %, 36 % et 9,3 % à un seul et même corps qui, après deux recristallisations dans l'alcool à 70 % fond à 174-175° et se présente sous forme de petites aiguilles blanc jaunâtre, peu solubles à froid dans l'eau, mais facilement à chaud et dans l'alcool à 95 %.

Nous pensons que ce corps n'est autre que la N-(p-nitrobenzènesulfonyl-glycyl)-colamine, bien que les résultats des microanalyses élémentaires ne concordent pas d'une manière satisfaisante avec les chiffres calculés pour la formule proposée (39,13 % de carbone au lieu de 39,60 % et 5,00 % d'hydrogène au lieu de 4,29 %). Cependant, ce corps ne peut pas être l'ester de la colamine et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine, car il ne forme pas de chlorhydrate et ne présente pas de solubilité accrue en milieu chlorhydrique.

CONCLUSIONS

En vue d'obtenir des sulfa-peptides, nous avons été amené à étudier plusieurs procédés de synthèse. Nous nous sommes arrêté à celui qui représente une méthode générale d'obtention de ces corps.

Cette synthèse est réalisable à partir de dérivés nitrés à condition toutefois que la fonction carboxyde libre de la chaîne peptidique soit préalablement estérifiée. Si on cherche à saponifier ces esters, ce qui n'offre

aucune difficulté dans le cas de l'ester de la sulfanilyl-glycine, on élimine non seulement la fonction ester, mais encore on scinde partiellement les liaisons amides des sulfa-peptides.

En introduisant notre sujet, nous avons exprimé l'espoir que les sulfa-peptides jouiraient d'une certaine activité bactériostatique. Cependant, peu après le début de nos recherches, V. COCKER montra que, si la sulfanilyl-glycine a une activité intéressante, la sulfanilyl-glycinamide est complètement inactive. Or, nous pouvons envisager les sulfa-peptides comme des sulfanilyl-glycinamides substituées en position amido,

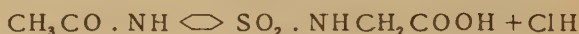
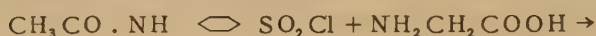


ce qui laisse supposer une activité très faible sinon nulle, ou alors égale à celle de la sulfanilyl-glycine, en admettant une hydrolyse in vivo de la liaison amide- $\text{CO} \cdot \text{NH}$.

DEUXIEME PARTIE

A) Peptides condensés avec un groupement aminobenzènesulfonyle à fonction N₄-amino bloquée.

1. N-Acétysulfanilyl-glycine^{1, 2, 17, 18, 19, 20}.



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 1,0 gr. (1 mol.) de glyocolle dans 13,3 cc. (2 mol.) de soude caustique 2 N. Ajouter 3,1 gr. (1 mol.) de chlorure de p-acétaminobenzènesulfonyle. Fermer l'erlenmeyer avec un bouchon de liège et agiter jusqu'à dissolution presque complète (30 min.). Filtrer dans un bécher de 20 cc., entouré de glace, acidifier par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à précipitation (pH 3,5). Filtrer à la trompe, laver, recristalliser deux fois dans l'alcool à 95 %.

Obtenu 2,65 gr. (73,5 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 237°.

Titrage :

Ajouter à une prise de N-acétysulfanilyl-glycine un excès de soude caustique $\frac{1}{10}$ N et titrer l'excès à recul par l'acide chlorhydrique $\frac{1}{10}$ N en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

Prise : 0,0205 gr., calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 0,75 cc. ; trouvé 0,74 cc.

2. N-Acétysulfanilyl-glycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 1,3 gr. (1 mol.) de glycylglycine dans 10,0 cc. (2 mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 2,3 gr. (1 mol.) de chlorure de N-acétylsulfanyle. Fermer l'erlenmeyer avec un bouchon de liège et agiter jusqu'à dissolution presque complète (1 heure). Filtrer dans un bécher de 20 cc., entouré de glace, acidifier par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à formation d'un précipité gélatineux (pH 3,5). Délayer avec 5 cc. d'eau, filtrer à la trompe, laver. Dissoudre le précipité dans l'alcool à 95 % bouillant, laisser refroidir jusqu'à formation d'un précipité microcristallin. Recristalliser dans l'alcool à 30 %.

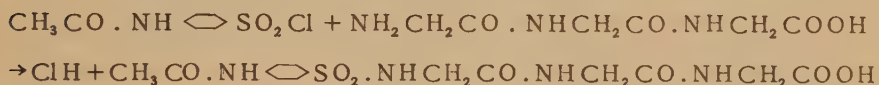
Obtenu 1,2 gr. (36,5 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 218°.

Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr., calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,52 cc. ; trouvé : 1,50 cc.

3. N-Acétylsulfanilyl-diglycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 1,9 gr. (1 mol.) de diglycylglycine dans 10,0 cc. (2 mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 2,3 gr. de chlorure de N-acétylsulfanyle. Procéder ensuite comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycylglycine, en diluant la solution, si c'est nécessaire, avec 5,0 cc. de soude caustique 2N.

Obtenu 2,9 gr. (75 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 206-207°.

Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

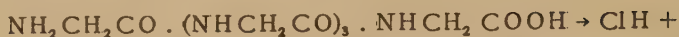
Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,295 cc. ; trouvé : 1,31 cc.

Dosage du carbone et de l'hydrogène :

% de carbone calculé : 43,50 ; trouvé : 43,87.

% d'hydrogène calculé : 4,67 ; trouvé : 4,82.

4. N-Acétysulfanilyl-tétraglycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 3,0 gr. (1 mol.) de tétraglycylglycine dans 10,0 cc. (2 mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 2,3 gr. de chlorure de N-acétysulfanilyle, puis diluer avec 5,0 cc. de soude caustique 2N. Fermer l'erlenmeyer avec un bouchon de liège et agiter pendant 1 heure. Filtrer à la trompe la solution encore trouble dans un bécher de 20 cc., entouré de glace, acidifier par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à formation d'un précipité gélatineux (pH 3,5). Dissoudre le précipité dans l'alcool à 50 % bouillant, refroidir, recueillir le précipité formé. Recristalliser dans l'alcool à 50 %.

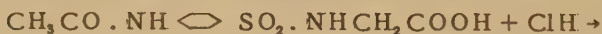
Obtenu 1,0 gr. (20 % de la quantité théorique) de poudre amorphe blanche sans point de fusion défini.

Titrage :

Procéder comme pour la N-acétysulfanilyl-glycine.

Prise : 0,097 gr.; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,94 cc.; trouvé : 1,91 cc.

5. Chlorhydrate de sulfanilyl-glycine^{1, 2, 18, 21, 22.}



Chauffer à reflux 1,36 gr. (1 mol.) d'acétysulfanilyl-glycine avec 1,0 cc. (1 mol.) d'acide chlorhydrique 5N pendant 30 min. Evaporer dans le vide à petit volume, séparer les cristaux formés, puis les dissoudre dans un peu d'eau et recristalliser par évaporation dans le vide.

Obtenu 0,65 gr. (49 % de la quantité théorique) de petits cristaux incolores.

Titrage : $\text{ClH}, \text{H}_2\text{N} \rightleftharpoons \text{SO}_2 \cdot \text{NHCH}_2\text{COOH} + \text{NO}_3\text{Ag} \rightarrow \text{ClAg} +$



Dissoudre le chlorhydrate de sulfanilyl-glycine dans un peu d'eau, ajouter de la soude caustique $\frac{1}{10}$ N jusqu'à pH 7,0, puis doser l'ion chlore par le nitrate d'argent $\frac{1}{10}$ N en présence de chromate de potassium comme indicateur.

Prise: 0,0193 gr., calculé $\text{NO}_3 \text{ Ag } \frac{1}{10} \text{ N}$: 0,725 cc.; trouvé: 0,72 cc.

6. Sulfanilyl-glycine^{1,2,18}.

Dissoudre 0,50 gr. (1 mol.) de chlorhydrate de sulfanilyl-glycine dans 0,5 cc. d'eau. Neutraliser avec du bicarbonate de sodium, filtrer, recristalliser dans l'eau, puis dans l'alcool à 95%.

Obtenu 0,35 gr. (81% de la quantité théorique) de petites aiguilles incolores, fondant à 154°.

7. Chlorure de N-formylsulfanilyle^{5,6,7}.



Dans un ballon de 50 cc., verser 30,0 gr. soit 17,0 cc. (2 ½ mol. environ) d'acide chlorosulfonique. Ajouter peu à peu, en ne dépassant pas 15°, 6,0 gr. (1 mol.) de formanilide, puis chauffer 2 h. à 60°. Verser le liquide sur 100 gr. de glace en agitant fréquemment. Essorer, laver à l'eau, sécher sur une assiette poreuse et cristalliser dans le benzène sec.

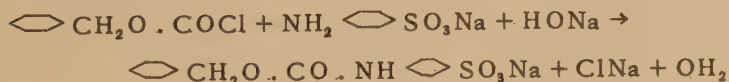
Obtenu 5.8 gr. (52,7% de la quantité théorique) de cristaux légèrement jaunâtres fondant à 157°.

Titrage:

Faire bouillir pendant 30 minutes le chlorure de N-formylsulfanilyle avec le double de la quantité de soude caustique N calculée, ajouter de l'acide nitrique N jusqu'à pH 7,0 puis doser l'ion chlore par le nitrate d'argent $\frac{1}{10}$ N en présence de chromate de potassium comme indicateur.

Prise: 0,0500 gr.; calculé $\text{NO}_3 \text{ Ag } \frac{1}{10} \text{ N}$: 2,28 cc.; trouvé: 2,29 cc.

8. N-Carbobenzoxysulfanilate de soude^{8,23,24}.

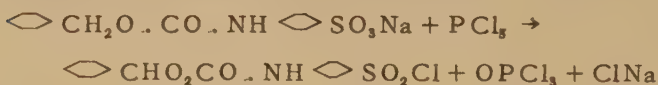


Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 5,0 gr. (1 mol.) de sulfanilate de sodium dans 30,0 cc. de soude caustique 2N. Ajouter par petites portions 6,0 gr. (plus d'une mol.) de chlorure de benzoxycarbonyle. Agiter jusqu'à dissolution en refroidissant continuellement avec de la glace.

Filtrer dans un bécher de 50 cc., entouré de glace, acidifier par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à précipitation. Filtrer et laver le précipité; le redissoudre dans la quantité calculée de soude caustique diluée. Evaporer dans le vide jusqu'à cristallisation.

Obtenu 3,0 gr. (35 % de la quantité théorique) de produit brut, se décomposant au-dessus de 276°.

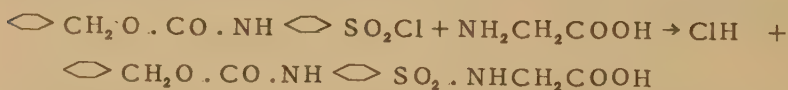
9. Chlorure de N-carbobenzoxysulfanilyle.



Dans un ballon de 20 cc., à col large et bas, mélanger 3,0 gr. (1 mol.) de N-carbobenzoxysulfanilate de sodium sec et 3,0 gr. (plus d'une mol.) de pentachlorure de phosphore. Le mélange s'échauffe et fond; après refroidissement triturer la masse avec 200 cc. d'eau, filtrer à la trompe et essorer.

Obtenu 2,0 gr. (67,5 % de la quantité théorique) de produit brut.

10. N-Carbobenzoxysulfanilyl-glycine.



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 0,46 gr. (1 mol.) de glycolle dans 9 cc. (plus de 2 mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 2,0 gr. (1 mol.) de chlorure de N-carbobenzoxysulfanilyle. Procéder ensuite comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine. Filtrer à la trompe le précipité obtenu, laver à l'eau, recristalliser trois fois dans l'alcool à 15 % pour éliminer une impureté abondante fondant à la température de 50° environ.

Obtenu 0,55 gr. (24,5 % de la quantité théorique) d'une poudre microcristalline blanche, fondant à 155°, insoluble dans l'eau froide, soluble dans l'alcool à 95 % froid et dans l'eau bouillante.

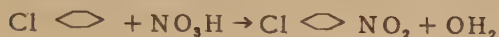
Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr.; calculé NaOH $\frac{1}{10}$ N : 1,37 cc.; trouvé : 1,31 cc.

B) Peptides et esters peptidiques condensés avec un groupement nitrobenzènesulfonyle.

11. p-Chloronitrobenzène²⁵.



Dans un bécher de 300 cc., contenant 125,0 gr. (2 mol.) d'acide nitrique fumant, verser lentement 112,0 gr. (1 mol.) de chlorobenzène; éviter que le mélange ne s'échauffe. La réaction étant terminée, faire couler le mélange dans 500 cc. d'eau, filtrer à la trompe, laver le précipité avec de l'eau, l'agiter énergiquement avec une solution chaude de soude caustique 2N, puis avec de l'eau chaude, enfin le recristalliser deux fois dans l'alcool à 95 % bouillant.

12. Disulfure de p-nitrophényle²⁶.



Dans un ballon de 1500 cc., muni d'un réfrigérant à reflux, dissoudre en chauffant au bain-marie 180,0 gr. (1,5 mol.) de sulfure de sodium cristallisé, sec, dans 750 cc. d'alcool à 95 %, ajouter 24,0 gr. de fleur de soufre pulvérisée. Dissoudre d'autre part, au bain-marie, dans un ballon de 2500 cc., 153,0 gr. (2 mol.) de p-chloronitrobenzène dans 250 cc. d'alcool à 95 %. Verser peu à peu cette seconde solution dans la première et maintenir à ébullition deux heures durant. Laisser refroidir pendant 6 heures et filtrer à la trompe. Triturer le précipité dans une capsule de porcelaine de 500 cc., avec 250 cc. d'eau, filtrer à la trompe et laver les cristaux sur le filtre avec 50 cc. d'alcool à 95 %.

Obtenu 125,0 gr. (83,5 % de la quantité théorique) de produit brut.

13. p-Nitrobenzènesulfonate de potassium^{27, 28}.



Ajouter peu à peu sous la hotte à 400,0 cc. (plus de 10 mol.) d'acide nitrique fumant, contenu dans un ballon à large col de 1000 cc., 125,0 gr. (3 mol.) de disulfure de p-nitrophényle. Chauffer modérément pendant une heure jusqu'à dissolution presque complète. Refroidir, diluer avec 1500 cc. d'eau et retenir sur un filtre les produits secondaires [di-(p-nitrophényle) sulfone]. Evaporer à feu nu, puis au bain-marie, à petit volume, ajouter un peu d'eau et recommencer plusieurs fois l'opération pour chasser l'acide nitrique. Neutraliser alors peu à peu avec une solution très con-

centrée de potasse caustique, en remuant continuellement, jusqu'à apparition d'une coloration légèrement brunâtre (correspondant à un pH de 7,0). Laisser déposer les cristaux jaunes qui se forment et filtrer à la trompe. Recristalliser dans l'eau bouillante. Filtrer à la trompe, sécher par lavage à l'acétone, puis sur assiette poreuse.

Obtenu 114,0 gr. (58,3% de la quantité théorique) de cristaux prismatiques jaune beige.

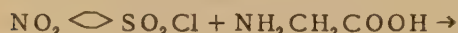
14. Chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl^{2, 29, 30, 31, 32}.



Dans un ballon à large col de 50 cc., chasser, en remuant continuellement, l'eau de cristallisation de 10,0 gr. (1 mol.) de p-nitrobenzènesulfonate de potassium à l'aide d'une petite flamme. Sans refroidir, ajouter 10,0 gr. (plus d'une mol.) de pentachlorure de phosphore pulvérisé et remuer avec une baguette de verre jusqu'à fusion complète de la masse. Remuer encore pendant le refroidissement, puis introduire rapidement le ballon et son contenu dans une capsule de porcelaine contenant environ 300 cc. d'eau. Triturer sous l'eau la masse cristalline, essorer, laver à l'eau, sécher sur assiette poreuse.

Obtenu 8,0 gr. (87% de la quantité théorique) de produit brut cristallisé, jaune, fondant à 76° après recristallisation dans l'éther de pétrole.

15. p-Nitrobenzènesulfonyl-glycine.



Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 2,0 gr. (plus d'une mol.) de glycolle dans 25,5 cc. de soude caustique 2N. Ajouter 5,0 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl brut. Fermer l'erlenmeyer avec un bouchon de liège et agiter pendant quelques minutes jusqu'à dissolution presque complète. Sans refroidir, filtrer à la trompe, verser la solution dans un bécher de 50 cc., entouré de glace et acidifier par l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à formation d'un précipité cristallin. Filtrer à la trompe, acidifier le filtrat, filtrer et répéter l'opération tant qu'un précipité se forme. Laver le précipité sur le filtre avec un peu d'eau et recristalliser dans l'alcool à 30%.

Obtenu 4,6 gr. (78% de la quantité théorique) de petits cristaux blanc

jaunâtre fondant à 167-168°, solubles à froid dans l'alcool à 95 %, le méthanol, l'acétone, très peu solubles dans l'eau froide.

Titration :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

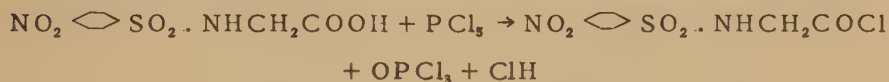
Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,92 cc. ; trouvé : 1,89 cc.

Dosage du carbone et de l'hydrogène :

% de carbone calculé : 36,90 ; trouvé : 36,91.

% d'hydrogène calculé : 3,08 ; trouvé : 3,20.

16. Chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle.



Dans un ballon à large col de 100 cc., introduire 6,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycine, 60,0 cc. de chlorure d'acétyle fraîchement distillé, puis 7,0 gr. (plus de 3 mol.) de pentachlorure de phosphore pulvérisé¹⁵. Triturer à la température ordinaire la masse en suspension, avec une baguette de verre, jusqu'à complète dissolution. Laisser reposer jusqu'à formation d'un précipité soyeux, filtrer à la trompe, laver à l'éther de pétrole sec.

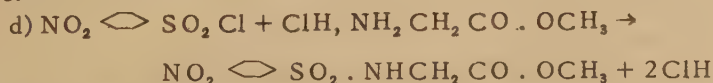
Obtenu 5,5 gr. (89% de la quantité théorique) d'aiguilles soyeuses, blanches, fondant à 136°.

17. Ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine.

a) Dissoudre à froid 2,0 gr. de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle dans 10 cc. de méthanol.

b) Dissoudre à froid 2,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dans 10 cc. de méthanol et ajouter 1 cc. d'acide chlorhydrique concentré.

c) Dissoudre 2,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycine dans 10 cc. de méthanol, faire passer dans la solution un courant de gaz chlorhydrique sec.



Procéder comme pour l'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine³³.

Dans les trois cas a), b) et c), refroidir la solution jusqu'à formation d'un précipité cristallin, filtrer, laver avec du méthanol, puis recristalliser dans du méthanol bouillant.

Obtenu : de 1,3 à 1,5 gr. (60-80 % de la quantité théorique) de petites aiguilles blanches, fondant à 139-140°, solubles à froid dans l'acétone, le dioxanne, à chaud dans l'alcool à 95 % et dans le méthanol, très peu solubles dans l'eau.

Ces cristaux sont saponifiés très rapidement à froid par la soude caustique 2N, et par adjonction d'acide chlorhydrique concentré à la solution obtenue, des cristaux de p-nitrobenzènesulfonyl-glycine précipitent, fondant à 167-168°.

18. Ester éthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine.

Dissoudre 2,0 gr. de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle dans 10,0 cc. d'alcool absolu, refroidir à la glace jusqu'à formation d'un précipité. Filtrer, laver à l'eau, recristalliser dans l'eau bouillante, puis dans l'alcool à 95 %.

Obtenu : 1,2 gr. (57 % de la quantité théorique) de petits cristaux fondant à 115°.

19. Mono-ester du glycol et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine.

Dans un ballon à large col de 20 cc., introduire 1,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycine et 5,0 cc. de glycol anhydre. Chauffer légèrement et faire passer un courant de gaz chlorhydrique sec, jusqu'à dissolution complète. Laisser cristalliser dans le vide, filtrer, laver à l'eau, recristalliser dans l'alcool à 95 %.

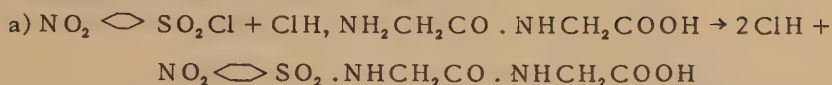
Obtenu : 0,6 gr. (51 % de la quantité théorique) de petits cristaux fondant à 109°, solubles à froid dans l'alcool, très peu solubles dans l'eau froide, un peu plus dans l'eau chaude.

Titration après saponification :

Chauffer légèrement pendant 10 minutes le mono-ester du glycol avec un excès de soude caustique $\frac{1}{10}$ N et titrer l'excès à recul par l'acide chlorhydrique $\frac{1}{10}$ N en présence de phénolphthaléine comme indicateur.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,64 cc. ; trouvé : 1,65 cc.

20. p-Nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine.



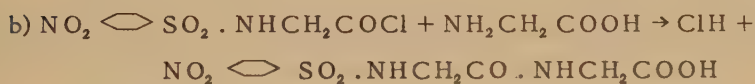
Dans un erlenmeyer de 100 cc., dissoudre 5,0 gr. (plus d'une mol.) de chlorhydrate de glycylglycine dans 30,0 cc. (plus d'une mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 7,4 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyle brut. Procéder ensuite comme pour la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine en refroidissant et en ajoutant peu à peu 30,0 cc. de soude caustique 2N. Recristalliser deux fois le produit brut obtenu dans de l'alcool à 30%.

Obtenu : 7,0 gr. (66 % de la quantité théorique) de petits cristaux blanc jaunâtre, fondant à 187-188°, solubles dans l'alcool à 95% dans l'acétone et dans l'eau bouillante.

Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,58 ; trouvé : 1,61 cc. ;



Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 1,0 gr. (plus d'une mol.) de glycolle dans 14,0 cc. de soude caustique N. Refroidir à 0° et dans l'espace d'une demi-heure ajouter par petites portions, en agitant énergiquement, 2,0 gr. de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle et 14,0 cc. de soude caustique N. Filtrer à la trompe, puis procéder comme sous a) .

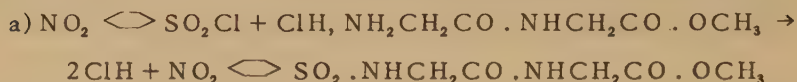
Obtenu : 1,0 gr. (44 % de la quantité théorique) de petits cristaux blanc jaunâtre fondant comme précédemment à 187-188°.

21. Chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycylglycine¹⁴.

Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 2,0 gr. de chlorhydrate de glycylglycine dans 25,0 cc. de méthanol saturé de gaz chlorhydrique sec. Laisser reposer jusqu'à formation de petits cristaux, puis filtrer à la trompe, laver avec un mélange à parties égales de méthanol et d'éther sec. Recristalliser dans le méthanol pur.

Obtenu : 1,8 gr. (83% de la quantité théorique) de petits cristaux fondant à 132°.

22. Ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 0,9 gr. (1 mol.) de chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycylglycine et 1,1 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl dans 14,0 cc. d'un mélange à parties égales d'acétone et d'eau. Ajouter 1,0 gr. (plus de 2 mol.) de bicarbonate de sodium et agiter tant que ce dernier se dissout. Evaporer une partie de l'acétone dans le vide, filtrer à la trompe, laver à l'eau et recristalliser deux fois dans du méthanol pur.

Obtenu : 1,2 gr. (73 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 143°, solubles à chaud dans l'alcool à 95% et le méthanol, insolubles dans l'eau froide.

Dosage de l'azote :

% d'azote calculé : 12,70 ; trouvé : 12,73.

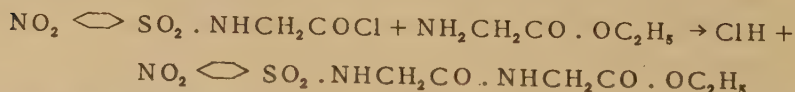
b) Dans un ballon à large col de 30 cc., dissoudre en triturant 2,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine dans 15,0 cc. de méthanol, saturé de gaz chlorhydrique sec. Chauffer légèrement, si c'est nécessaire, pour faciliter la dissolution, puis refroidir le ballon jusqu'à formation d'un précipité cristallin. Filtrer à la trompe, laver à l'eau et recristalliser deux fois dans du méthanol pur.

Obtenu : 1,45 gr. (65 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant comme précédemment à 143°.

Dosage de l'azote :

% d'azote calculé : 12,70 ; trouvé : 12,69.

23. Ester éthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 50 cc., introduire 1,0 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle dans 20 cc. d'une solution éthérée, refroidie, contenant 0,8 gr. (plus de 2 mol.) de glycocollate d'éthyle. Agiter énergiquement pendant une demi-heure, filtrer à la trompe la masse cristalline, laver avec un peu d'eau additionnée de quelques gouttes d'ammo-

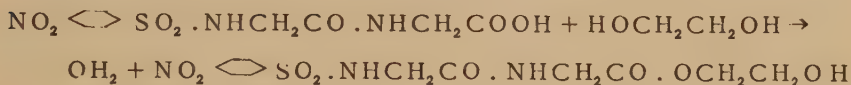
niaque, pour éliminer le chlorhydrate de glycollate d'éthyle, puis avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Recristalliser dans l'eau, puis dans l'alcool à 95 %.

Obtenu : 0,6 gr. (48 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 146°.

Dosage de l'azote :

% d'azote calculé : 12,00 ; trouvé : 12,66.

24. Mono-ester du glycol et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine.



Dans un ballon à large col de 20 cc., introduire 1,0 gr. de p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine et 5,0 cc. de glycol anhydre, chauffer légèrement jusqu'à dissolution et faire passer un courant de gaz chlorhydrique sec en maintenant la température du mélange à 20° environ. Laisser cristalliser dans le vide en présence de soude caustique en pastilles, éventuellement diluer de moitié avec de l'eau la solution de glycol. Filtrer à la trompe, laver à l'eau, recristalliser deux fois dans l'alcool à 50 %.

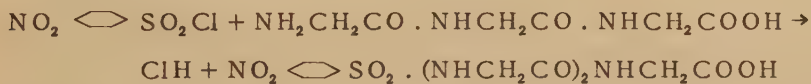
Obtenu : 0,7 gr. (61 % de la quantité théorique) de petites aiguilles fondant à 121°, solubles dans l'alcool à 95 % et dans l'acétone, insolubles dans l'eau, l'éther, le benzène et le tétrachlorure de carbone.

Titrage :

Procéder comme pour le mono-ester du glycol et de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,385 cc. ; trouvé : 1,40 cc.

25. p-Nitrobenzènesulfonyl-diglycylglycine.



Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 6,0 gr. (plus d'une mol.) de diglycylglycine dans 30,0 cc. (plus de 2 mol.) de soude caustique 2N. Ajouter 5,1 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl brut. Procéder ensuite comme pour la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine et recristalliser deux fois le produit brut obtenu dans de l'alcool à 95 %.

Obtenu 2,0 gr. (20 % de la quantité théorique) de petits cristaux fondant à 178°, solubles à chaud dans l'alcool à 95 %.

Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,28 cc. ; trouvé : 1,24 cc.

26. Ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-diglycylglycine.



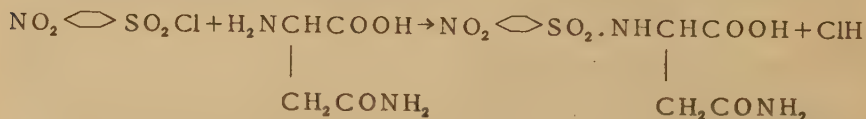
Dans un erlenmeyer de 50 cc., dissoudre 2,0 gr. (1 mol.) de chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycylglycine¹⁴ et 3,0 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyl-glycyle dans 33,0 cc. d'un mélange à parties égales d'acétone et d'eau. Ajouter 2,2 gr. (plus de 2 mol.) de bicarbonate de sodium et agiter tant que ce dernier se dissout. Evaporer une partie de l'acétone dans le vide, filtrer à la trompe, laver à l'eau et recristalliser deux fois dans du méthanol pur.

Obtenu 1,4 gr. (33 % de la quantité théorique) de poudre cristalline fondant en se décomposant vers 192°, soluble à chaud dans le méthanol et l'acétone, insoluble à chaud dans l'eau et dans l'alcool à 95 %.

Dosage de l'azote :

% d'azote calculé : 14,45 ; trouvé : 13,83.

27. p-Nitrobenzènesulfonyl-asparagine⁴².



Dans un erlenmeyer de 20 cc., dissoudre 1,5 gr. (plus d'une mol.) d'asparagine dans 8,5 cc. de soude caustique 2N. Ajouter 2,0 gr. (1 mol.) de chlorure de p-nitrobenzènesulfonyle brut. Procéder ensuite comme pour la p-nitrobenzènesulfonylglycine et recristalliser deux fois le produit brut obtenu dans de l'alcool à 50 %.

Obtenu 1,1 gr. (38 % de la quantité théorique) de petits cristaux fondant à 210° (décomposition), solubles dans l'alcool à 95°.

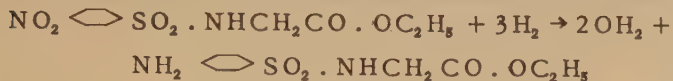
Titrage :

Procéder comme pour la N-acétylsulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé Na OH $\frac{1}{10}$ N : 1,55 cc. ; trouvé : 1,57 cc.

C) Esters sulfa-peptidiques.

28. Chlorhydrate de l'ester éthylique de la sulfanilyl-glycine^{16, 34, 41}.



Dans l'ampoule à hydrogénation catalytique, introduire 0,05 gr. d'oxyde de platine comme catalyseur, 3,0 gr. d'ester éthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine et 20 cc. d'alcool absolu. Chasser l'air en faisant passer un courant d'hydrogène pendant quelques instants, fermer le robinet C. Porter la pression à 2 atm. environ et noter l'écart des index de mercure. Chauffer l'ampoule jusqu'à dissolution des produits (50° environ), mettre l'agitateur en marche et suivre l'index dans ses déplacements. Arrêter l'agitateur, laisser refroidir à la température ambiante et déterminer le volume d'hydrogène absorbé. Si le volume d'hydrogène calculé n'est pas entièrement absorbé, prolonger l'hydrogénation.

Laisser déposer le noir de platine (1 heure), filtrer à la trompe sur couche d'amiante, évaporer le filtrat dans le vide à petit volume et ajouter en une seule fois 20 cc. d'éther sec saturé de gaz chlorhydrique sec. Filtrer à la trompe le précipité, laver à l'éther sec, recristalliser deux fois dans l'alcool absolu bouillant.

Obtenu 2,6 gr. (92 %) de la quantité théorique de petits cristaux fondant à 181-182°, solubles dans l'eau froide et l'alcool absolu bouillant.

Titrage :

Procéder comme pour le chlorhydrate de sulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé NO₃ Ag $\frac{1}{10}$ N : 1,695 cc. ; trouvé : 1,66 cc.

29. Ester éthylique de la sulfanilyl-glycine³⁴.

Dissoudre 2,0 gr. (1 mol.) de chlorhydrate de l'ester éthylique de la sulfanilyl-glycine dans 6,0 cc. d'eau, ajouter 0,7 gr. (plus de 1 mol.) de bicarbonate de sodium, recueillir les cristaux qui se forment, laver avec un peu d'eau et recristalliser deux fois dans l'alcool à 60 %.

Obtenu 1,2 gr. (68,5 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant à 92°.

30. Chlorhydrate de l'ester méthylique de la sulfanilyl-glycine¹⁶.

Dans l'ampoule à hydrogénation catalytique, introduire 0,05 gr. d'oxyde platinique comme catalyseur, 2,5 gr. d'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycine et 20 cc. d'alcool absolu. Procéder ensuite comme pour le chlorhydrate de l'ester éthylique de la sulfanilyl-glycine.

Obtenu 2,3 gr. (90 % de la quantité théorique) de petits cristaux solubles dans l'eau et l'alcool absolu bouillant.

Titrage :

Procéder comme pour le chlorhydrate de sulfanilyl-glycine.

Prise : 0,0500 gr. ; calculé $\text{NO}_3\text{Ag} \frac{1}{40} \text{N}$: 1,785 cc. : trouvé : 1,76 cc.

31. Chlorhydrate de l'ester méthylique de la sulfanilyl-glycylglycine.

Dans l'ampoule à hydrogénation catalytique, introduire 0,05 gr. d'oxyde platinique comme catalyseur, 1,5 gr. d'ester méthylique de la p-nitrobenzènesulfonyl-glycylglycine et 15 cc. d'alcool absolu. Procéder ensuite comme pour le chlorhydrate de l'ester éthylique de la sulfanilyl-glycine.

Obtenu : 1,25 gr. (82 % de la quantité théorique) de petits cristaux blancs fondant en se décomposant entre 90 et 100°. Ces cristaux, neutralisés par le bicarbonate de sodium, se transforment en un produit huileux non miscible à l'eau.

Dosage de l'azote :

% d'azote calculé : 12,45 ; trouvé : 12,18.

TROISIÈME PARTIE

Appareils et procédés

A) Hydrogénation catalytique à pression ordinaire.

a) Appareil à réduction.

L'appareil utilisé est celui décrit dans l'ouvrage de Gattermann³⁵ avec la modification suivante: l'ampoule à hydrogénation est un ballon à distiller de 100 cc., dont la tubulure latérale, recourbée en U, sert à la fois d'axe d'oscillation et de tube d'introduction de l'hydrogène. Le col du ballon est obturé par un bouchon de caoutchouc, traversé par un tube de verre, dont l'extrémité intérieure affleure le solvant. Un robinet simple permet de fermer le tube dans sa partie supérieure.

b) Le gazomètre.

Le gazomètre à eau, identique à celui décrit³⁵, est alimenté par un tube à hydrogène. Le gaz traverse un flacon laveur permettant d'estimer le débit. Le barbotage dans des solutions acide et alcaline de permanganate de potassium n'a pas été nécessaire, l'hydrogène comprimé étant suffisamment pur.

c) Le catalyseur.

De tous les catalyseurs utilisés, l'oxyde platinique, obtenu par la méthode décrite dans «Synthèses organiques»¹¹ s'est révélé le plus actif. Le palladium³⁶, très actif aussi, a l'inconvénient de conserver son caractère colloïdal longtemps après la fin de la réduction.

Des essais de réduction de la p-nitrobenzènesulfonylglycine en sulfaglycine par le nickel Raney^{37, 38}, à température et pression ordinaires, ont été négatifs.

d) Les solvants.

L'alcool absolu, l'alcool à 95 %, l'acétone et l'acide acétique glacial ont été employés suivant les cas¹⁰. L'hydrogénation est beaucoup plus rapide dans l'alcool que dans l'acétone, elle est assez lente dans l'acide acétique glacial.

Les solvants sont utilisés sans purification préalable. Il y a lieu de relever qu'une partie de l'acétone se réduit en alcool isopropylique, mais il est facile en établissant la courbe de réduction, de déduire le volume d'hydrogène absorbé par cette réaction secondaire.

B) Hydrogénation catalytique sous pression.

a) L'ampoule à hydrogénation.

Le ballon en verre mince, que nous utilisions pour les hydrogénations à pression ordinaire, est remplacé par une ampoule étranglée, en verre pyrex, capable de résister à une pression de 7-8 atmosphères.

La partie inférieure (a) sert de chambre à hydrogénation et la partie supérieure (b) de réservoir. En (c) est aménagé un entonnoir à robinet, permettant l'introduction du catalyseur, de la substance et du solvant. Un tuyau de caoutchouc épais (d) relie l'ampoule au manomètre en (g).

b) Le manomètre.

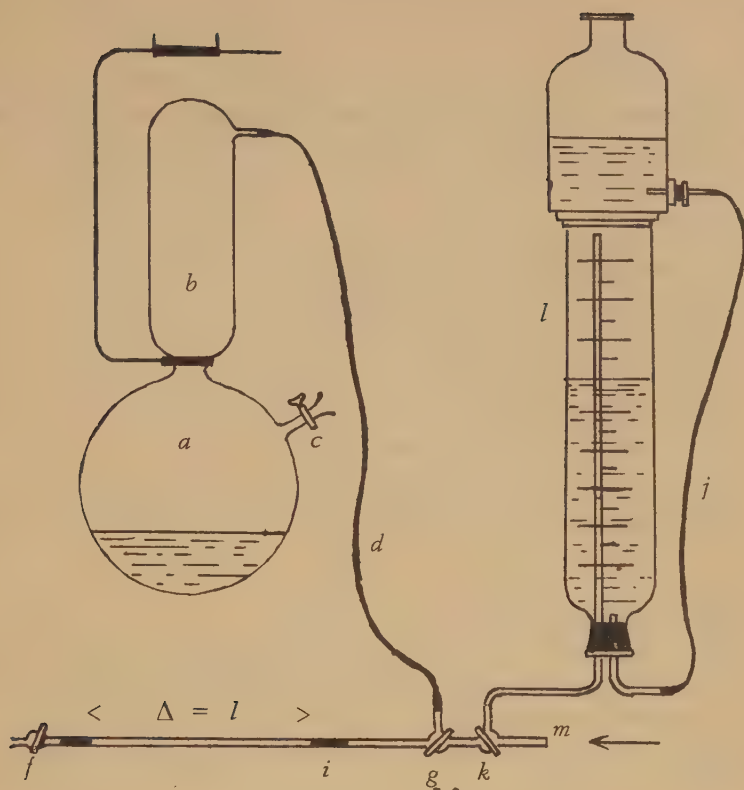
Le manomètre est constitué par un tube capillaire épais, horizontal, de 80 cm, parfaitement nettoyé et sec, fermé en (f) par un robinet simple et en (g) par un robinet à trois voies. Deux index de mercure se trouvent chacun au voisinage des robinets (f) et (g). Le manomètre est relié au gazomètre (l) par un tuyau de caoutchouc épais (j).

c) Le gazomètre.

Le gazomètre est celui utilisé dans l'hydrogénation à pression ordinaire, avec un robinet à trois voies en (k).

d) Fonctionnement et étalonnage de l'appareil.

Introduire dans l'ampoule (a) un volume d'alcool ou de solvant égal à celui utilisé dans l'hydrogénation. Déplacer l'index de mercure en (f), de façon qu'il soit en contact avec la paroi du robinet (f), puis purger l'ampoule de l'air qu'elle contient au moyen d'un courant d'hydrogène d'une atmosphère environ, pénétrant en (m), passant par le robinet (k) et ressort-



tant en (c). Fermer le robinet (c), tourner le robinet (k) de façon que le gazomètre (l) soit en communication avec l'ampoule seulement. Déterminer le zéro du gazomètre et, au moyen d'une règle graduée, l'écart Δ des deux index du manomètre, écart correspondant à la pression barométrique de l'air ambiant, p . Le volume de l'ampoule V_0 est le volume intérieur de l'ampoule, limité par l'index (i) et le robinet (k). L'espace inclus dans le gazomètre et limité par le robinet (k), n'intervient pas dans les calculs, la pression et la température de ce volume d'hydrogène ne variant pas au cours de l'expérience.

Introduire une nouvelle quantité d'hydrogène sous une pression trois à quatre fois supérieure, le gazomètre étant isolé du reste de l'appareil au moyen du robinet (k). La mesure de l'écart Δ' des index permet de calculer la valeur de la nouvelle pression

$$1) p' = \frac{\Delta}{\Delta'} p.$$

Par le déplacement de l'index (i), le volume V_0 s'est accru d'une quantité

$$v = (\Delta - \Delta') \pi r^2$$

Tourner le robinet (k) de façon que l'hydrogène de l'ampoule se détende dans le gazomètre et déterminer l'accroissement de volume V' . L'équation d'équilibre entre les deux états peut alors s'établir

$$p' (V_0 + v) = p (V_0 + V')$$

et permet de connaître le volume de l'ampoule

$$V_0 = \frac{pV' - p'v}{p' - p} = \frac{\Delta' V' - \Delta v}{\Delta - \Delta'}$$

v est de l'ordre de 1 à 2 cc. et peut être négligé pourvu que V_0 soit suffisamment grand. L'équation se simplifie

$$2) V_0 = \frac{\Delta'}{\Delta - \Delta'} V'$$

e) L'hydrogénation.

Introduire dans l'ampoule le catalyseur, la substance et le solvant. La quantité de substance introduite doit être en rapport avec la masse d'hydrogène contenue dans l'ampoule. Purger l'ampoule comme précédemment de l'air qu'elle contient et porter l'hydrogène à la pression désirée (formule 1).

Le volume $V_0 + V'$ se déduit de la formule (2).

$$3) (V_0 + V') = \frac{\Delta}{\Delta'} V_0$$

Mettre alors l'agitateur en marche et suivre au manomètre l'absorption de l'hydrogène; le volume absorbé au cours de la réduction correspond à

$$4) V' - V'' = \left(\frac{1}{\Delta'} - \frac{1}{\Delta''} \right) V_0 \Delta$$

L'hydrogénation est achevée quand Δ'' reste constant. Contrôler alors la valeur de $V' - V''$, déduite de la formule (4), en détendant l'hydrogène dans le gazomètre et en lisant directement le volume absorbé sur l'échelle du cylindre gradué. La valeur $V' - V''$ correspond à la température et à la pression de l'air ambiant, il y a lieu de la rapporter aux conditions normales.

C) Hydrogénation catalytique sous pression et à chaud.

L'appareil est le même que celui utilisé pour les hydrogénations sous pression à température ordinaire. Un bec Bunsen à manchon est placé sous l'ampoule et le manomètre joue maintenant le rôle de thermomètre à gaz.

Fonctionnement de l'appareil.

Après avoir purgé l'ampoule de l'air qu'elle contient, porter l'hydrogène à la pression désirée et déterminer le volume introduit comme précédemment. Après avoir noté la température ambiante, donnée par un thermomètre à mercure, chauffer l'ampoule. L'index du manomètre se déplace sous l'effet de la pression croissante et cette dernière s'exprime par la relation :

$$1) p \Delta = p' \Delta'$$

la température du manomètre étant constante. Il suffit d'appliquer l'équation des gaz parfaits à la masse d'hydrogène contenue dans l'ampoule.

$$2) p' (V_0 + v) = \frac{p V_0}{T} T'$$

p' et p s'éliminant entre les équations (1) et (2), T' est déterminé par

$$3) T' = \left(1 - \frac{v}{V_0}\right) \frac{\Delta}{\Delta'} T$$

En négligeant le second terme de la parenthèse, l'équation se simplifie

$$4) T' = \frac{\Delta}{\Delta'} T$$

Ayant obtenu la température désirée, régler le bec Bunsen de façon que l'index de mercure ne varie plus sensiblement et mettre en marche l'agitateur. L'hydrogénation est suivie avec une certaine approximation par le déplacement de l'index de mercure; elle est achevée quand la position de l'index ne se modifie plus d'une façon appréciable.

Eloigner le bec Bunsen et laisser le système revenir à la température ambiante. La détermination exacte du volume absorbé se fait alors comme précédemment.

BIBLIOGRAPHIE *

- 1) Hugo BAUER: *Am. Soc.*, 61, 613-616, 1939.
- 2) E.H. NORTHEY: *Chem. Reviews*, 27, 85-197, 1940.
- 3) K. LANDSTEINER and J. VAN DER SCHEER: *J. Exp. Medicine*, 69, 705-19, 1939; cf. *C.A.*, 28, 4785⁹; *C.A.*, 33, 5488.
- 4) Emil ABDERHALDEN und Eugen RIESZ: *Fermentf.*, 12, 180-222, 1930.
- 5) DAVIS: *Soc.*, 95, 1400.
- 6) GERHARDT, A., 60, 311.
- 7) A. DURAN: *R. Rev. Quim. Farm. (Santiago, Chili)*, 4, N° 40, 2-8, 1946; *C. A.* 40, 5710.
- 8) B., 65, 1192.
- 9) *Synthèses organiques*, p. 123, 1935.
- 10) WALLACE H. CAROTHERS with Roger ADAMS: *Am. Soc.*, 46, (2), 1678.
- 11) *Synthèses organiques*, 1935, 420.
- 12) *Z. Phys. Ch.*, 56, 412, 1906.
- 13) SKITA: B., 56, 187, 1923.
- 14) E. FISCHER, FOURNEAU: B., 1901, 34, 2872.
- 15) B. 38, 614, 1905.
- 16) WESLEY COCKER: *Soc.*, 1940, 1574-6.
- 17) H. GILMAN et F. SCHULZE: *Synthèses organiques*, 1935, 228.
- 18) H.G. KOLLOFF: *Am. Soc.*, 60, 950-1, 1938.
- 19) Akt.-Ges. vorm. R. Siegfried: brevet suisse, 194761 du 16 mai 1938 (Cl. 369).
- 20) L.H. PINCE and H.C. WINTER: *Am. Soc.*, 61, 2977-8, 1939.
- 21) K. GANAPATI: *J. indian chem. Soc.*, 15, 525-31, 1938; *C.A.*, 33, 2495.
- 22) KERESZTY, WOLF: brevet hongrois, 122 450 du 27 novembre 1936, C. 1941, I, 800.
- 23) THIELE, DENT: A. 302, 257.
- 24) B. 26, 1990.
- 25) JUNGFLEISCH: *An ch.* 1868, (4), 15, 221.
- 26) *Synthèses organiques*, 1935, 296.
- 27) WOHLFAHRT: *J. pr.*, 1902, 66, 553.
- 28) EKBOM: B., 35, 653.
- 29) Frank BELL: *Soc.*, 1928, *Trans.* 2776.
- 30) A.C.N.A. Azienda Colori Nazionali Affini, Milan: brevet it., 384704 du 27 juil. 1940, C. 1942, II, 341.
- 31) LIMPRICHT: A., 1875, 177, 77.
- 32) BLANKSKMA: R., 20, 128-9, 1901.
- 33) CURTIUS, GOEBEL: *J. pr.* (2), 1888, 37, 159.
- 34) CROSSLY, NORTHEY and HULTQUIST: *Am. Soc.*, 62, 532-4, 1940.
- 35) L. GATTERMAN: *Manuel prat. de chim. org.*, 369, 1946.
- 36) SHRINER and ADAMS: *Am. Soc.*, 46, 1683, 1924.
- 37) Bl. (5), 7, 296, 1940.
- 38) ADRIEN ALBERT and BRUCE RITCHIE: *J. Pr. Soc. N. S. Wales* (Vol. 4, XXIV pp. 74-81), 1940, 74, 74-81.
- 39) E. FISCHER: B. 34, 436, 1901.

*) Abréviations selon Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, Vierte Auflage 1955.

- 40) HARRIES, WEISS: A., 1903, 327, 365.
- 41) M.V. RUBTSOV and V.M. FEDOSOVA: J. Gen. Chem. (URSS), 14, 848-56, 1944.
- 42) R. LEHMANN and Eugène GRIVSKY: Bl. Soc. chim. Belg., 55, 52-97, 1946.
- 43) B. SAMDAHL et Chr. Fr. WEIDER: Bl. (5), 2, 2008-16, 1935.

TABLE DES MATIERES

	page
Introduction	5
I ^{ère} partie	
La synthèse des sulfa-peptides par blocage de la fonction N ₄ -amino	7
La synthèse des sulfa-peptides à partir des dérivés nitrés	8
1) Préparations des dérivés nitrés	9
2) La réduction catalytique à pression ordinaire	9
3) L'hydrogénation sous pression	10
4) L'hydrogénation à pression ordinaire et en présence d'ions H	10
5) L'estérification des p-nitrobenzènesulfonyl-peptides	11
6) Remarques au sujet de l'ester méthylique de la p-nitrobenzène-sulfonylglycine	12
7) L'hydrogénation à chaud et sous pression	13
8) Remarques au sujet de quelques essais faits pour obtenir la N-(p-nitrobenzènesulfonyl-glycyl)-colamine et l'ester de la colamine et de la p-nitrobenzènesulfonylglycine	13
Conclusions	14
II ^e partie	
A) Peptides condensés avec un groupement aminobenzène-sulfonyle à fonction N ₄ -amino bloquée	16
B) Peptides et esters peptidiques condensés avec un groupement nitrobenzènesulfonyle	21
C) Esters sulfa-peptidiques	29
III ^e partie	
Appareils et procédés	31
A) Hydrogénation catalytique à pression ordinaire	31
B) Hydrogénation catalytique sous pression	32
C) Hydrogénation catalytique sous pression et à chaud	35
Bibliographie	36

